

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

Carcinoma das Células Escamosas da Orofaringe: Era do HPV

Inês Filipa Matos Inácio

Janeiro'2019

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Otorrinolaringologia

Carcinoma das Células Escamosas da Orofaringe: Era do HPV

Inês Filipa Matos Inácio

Orientado por:

Dr. Marco Simão

Janeiro'2019

Resumo

A incidência do carcinoma das células escamosas da orofaringe (CCEO) tem vindo a aumentar nas últimas décadas, aparentemente, devido à associação do mais recente fator de risco, o HPV, uma vez que as taxas deste relacionadas com outros fatores como tabaco e álcool têm vindo a diminuir. Nos EUA e Europa Ocidental, 70% a 80% dos casos de carcinoma das células escamosas da orofaringe, são atribuídos ao HPV, respetivamente.

O CCEO HPV-positivo representa uma entidade biológica única, distinta dos restantes carcinomas da cabeça e do pescoço. Além das características epidemiológicas, fatores de risco e carcinogénese, existem também diferenças clínicas e patológicas.

A abordagem terapêutica dos CCEO HPV-positivos mantém-se igual aos CCEO não relacionados com o HPV. Contudo, dado os resultados e a morbilidade associada, novas abordagens cirúrgicas e tratamentos de desintensificação estão em andamento. Até agora os resultados disponíveis têm-se demonstrado bastante promissores, pelo que é provável que no futuro a abordagem destes tumores seja mais individualizada com base nas características dos indivíduos e dos tumores.

A vacinação contra o HPV, recomendada até agora para outros tipos de tumores, apresenta um potencial benefício na redução do risco dos CCEO HPV-positivos por ser dirigida a genótipos que também estão envolvidos nestes tumores.

Também a educação dos indivíduos recomendando práticas sexuais seguras e hábitos para minimizar a exposição tabágica e consumo de álcool, deverá continuar a acompanhar todo o conhecimento científico e abordagens ao doente.

Palavras-Chave: Vírus papiloma humano, carcinoma das células escamosas da orofaringe, diagnóstico, tratamento, prevenção.

Abstract

The incidence of oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) has been increasing in the last decades, apparently due to the association of the latest risk factor, HPV, since the rates of this cancer related to other factors like tobacco and alcohol have been decreasing. Only in the US and Western Europe 70% to 80% of cases of oropharyngeal squamous cell carcinoma are associated to HPV, respectively.

HPV-positive OPSCC represents a unique biological entity, distinct from the remaining head and neck carcinomas. In addition to the epidemiological characteristics, risk factors and carcinogenesis, there are also clinical and pathological differences.

The therapeutic approach of HPV-positive OPSCC remains the same as the non HPV-related carcinomas. However, given the results and associated morbidity, new surgical approaches and treatments deintensification are underway. So far the available results have shown to be quite promising, so it is likely that in future the approach to these tumors will be more targeted based on the characteristics of each individual and those of the tumors.

HPV vaccination, so far recommended for other types of tumors, has a potential benefit in reducing the risk of HPV-positive CCEO because it targets genotypes that are also involved in these tumors.

Additionally, the education of individuals, with the recommendation of safe sex practices and habits to minimize smoking exposure and alcohol consumption, should continue to go along with all the scientific knowledge and approaches to the patient.

Key words: human papillomavirus, oropharyngeal squamous cell carcinoma, diagnostic, treatment, prevention

Índice

Lista de Abreviaturas.....	4
Introdução.....	5
Caraterísticas da Orofaringe	6
Epidemiologia e Fatores de risco.....	7
Da infecção à carcinogénese	9
Caraterísticas clinicopatológicas	11
Prognóstico	13
Avaliação e Estadiamento	14
Avaliação	14
Estadiamento.....	16
Tratamento.....	18
Mudanças na Cirurgia	18
Tratamento Atual	19
Desintensificação	20
Novas Terapêuticas	23
Estratégias de Prevenção	25
Conclusão	26
Agradecimentos.....	29
Bibliografia.....	30

Lista de Abreviaturas

AJCC – *American Joint Committee on Cancer*

CCECP – Carcinomas de Células Escamosas da Cabeça e do Pescoço

CCEO – Carcinoma de Células Escamosas da Orofaringe

ECOG – *Eastern Cooperative Oncology Group*

EUA – Estados Unidos da América

EMA - *European Medicines Agency*

FDA - *Food and Drug Administration*

HPV – Vírus Papiloma Humano

IHQ – Imunohistoquímica

ISH - Hibridização *in situ*

NCCN - *National Comprehensive Cancer Network*

OS – Sobrevida global

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PD-1 - Proteína de morte celular programada 1

PD-L1 – Ligando da proteína da morte celular programada 1

PET-scan - Tomografia por Emissão de Positrões

PFS – Sobrevida livre de progressão

RM – Ressonância magnética

TC – Tomografia computadorizada

TLM - Microcirurgia trans-oral a laser

TORS - Cirurgia robótica trans-oral

Introdução

O Vírus do Papiloma Humano (HPV) é responsável por provocar a infecção sexualmente transmissível mais comum em homens e mulheres^[1]. Este vírus está associado a múltiplas doenças mucocutâneas, podendo causar doenças benignas, lesões pré-malignas e lesões malignas invasivas ^[2, 3]. Uma grande parte dos indivíduos sexualmente ativos irá contactar com o HPV em algum momento da sua vida^[4]. No entanto, a maioria das infecções provocadas pelo HPV são normalmente eliminadas pelo sistema imunológico do hospedeiro no espaço de 1 a 2 anos sem causar qualquer sintoma, sendo que apenas numa pequena percentagem de indivíduos a infecção progride para infecção crónica persistente^[5, 6]. Atualmente existem mais de 200 genótipos diferentes de HPV identificados, e dependendo da sua capacidade de persistência e acumulação progressiva de mutações, estes podem ser divididos em duas categorias, alto-risco e baixo-risco, em função do potencial de malignidade^[5, 7]. Nos HPV de baixo risco incluem-se os genótipos 6 e 11, responsáveis pela maioria das doenças benignas tais como as verrugas genitais e os condilomas. Os genótipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 e 59 pertencem aos HPV de alto risco devido ao elevado grau de malignidade, principalmente no colo do útero, na vulva, na vagina, no pénis, no ânus, no reto, e na orofaringe^[5, 8]. Os HPV-16 e 18 são os responsáveis pela grande maioria dos tumores HPV-positivos, sendo que os restantes representam cerca de 10% desses tumores^[8, 9].

Os tumores HPV-positivos corresponderam a 3% e 2% dos cancros diagnosticados em mulheres e homens, respetivamente, nos EUA em 2009^[10]. Embora a incidência do cancro do colo do útero esteja a diminuir, no carcinoma das células escamosas da orofaringe (CCEO), a incidência tem vindo a aumentar significativamente nas últimas 3 décadas^[4, 11]. Este aumento deve-se ao mais recente fator de risco envolvido na carcinogénese, o HPV, uma vez que as taxas de CCEO relacionada com outros fatores nomeadamente tabaco e álcool, tem vindo a decrescer, estimando-se que 70 a 80% dos CCEO são atribuídos ao HPV nos EUA e na Europa Ocidental^[5, 11, 12]. Dentro dos genótipos do HPV de alto risco que têm sido associados à carcinogénese da cabeça e do pescoço, o HPV-16 é o mais comum, estando presente em mais de 90% dos CCEO^[13, 14]

Quanto ao CCEO, subgrupo dos carcinomas das células escamosas da cabeça e do pescoço (CCECP), nos últimos anos, tem-se vindo a verificar que, para além dos fatores

de risco clássicos- tabaco e álcool- envolvidos na sua carcinogénese, este pode ser induzido pelo HPV, havendo assim uma nova entidade, que pode coexistir com os restantes fatores de risco. Deste modo, torna-se importante distinguir os CCEO HPV-positivos dos restantes, uma vez que estes têm características patológicas distintas e se associam a um grupo epidemiológico diferente, os indivíduos tendem a ser mais jovens e do sexo masculino, com menor exposição a tabaco e a álcool, com múltiplos parceiros sexuais e com um estatuto socioeconómico e educacional superior^[15, 16]. A compreensão do perfil molecular, a melhor resposta ao tratamento e a consequente melhoria do prognóstico dos CCEO HPV-positivos levou a reconsiderar uma nova abordagem do estadiamento revisto na 8ª edição do Manual de Estadiamento do Cancro da *American Joint Committee on Cancer* (AJCC), e tratamento^[17, 18].

Este artigo pretende fazer uma revisão da literatura à relação entre o HPV e a CCEO, desde a carcinogénese até ao desenvolvimento do tumor, diagnóstico, prognóstico e tratamento, considerando as novas opções terapêuticas, e estratégias preventivas.

Caraterísticas da Orofaringe

A Organização Mundial de Saúde considera que os carcinomas da orofaringe incluem a base da língua, as amígdalas palatinas e os adenoides^[19]. Por sua vez, a 8ª edição do Manual de Estadiamento do Cancro da AJCC considera uma maior variedade de locais anatómicos possíveis para o desenvolvimento do carcinoma da orofaringe, nomeadamente a base da língua, amígdalas (linguais e palatinas), palato mole, úvula, valécula e pilares amigdalinos posteriores e laterais^[18]. Apesar destas diferenças nas classificações, anatomicamente a orofaringe corresponde a uma das 3 porções da faringe

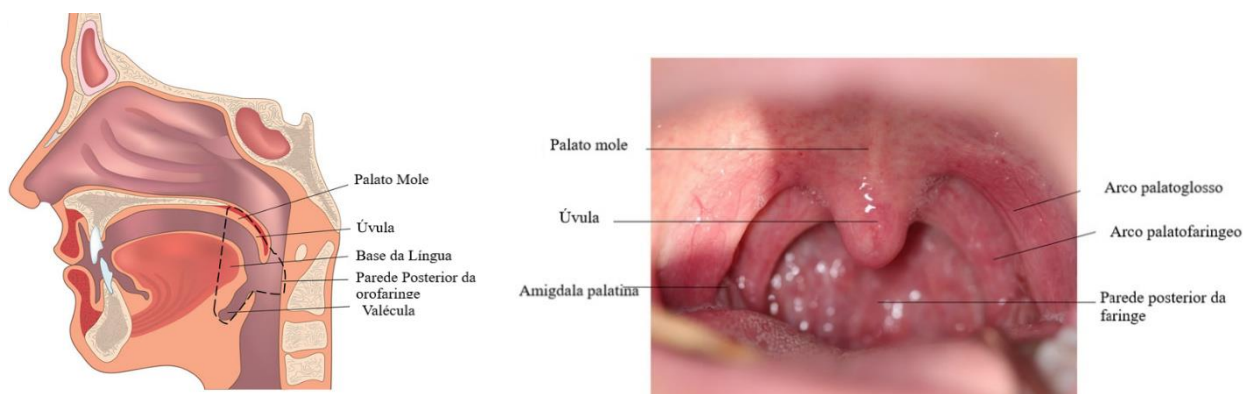


Figura 1 - Ilustração (A) e fotografia (B) dos limites anatómicos e aspeto clínico da orofaringe (retirado de A: depositphotos.com e B: Yakin M et al., 2018)

estendendo-se desde a face ântero-inferior do palato mole até um plano que passa pelo osso hióide. Da sua constituição fazem parte as amígdalas palatinas, a úvula, o palato mole, os pilares amigdalinos e a base da língua (incluindo as amígdalas linguais) (Figura 1^[20]).

Quanto à sua histologia, esta trata-se de uma estrutura heterogénea. O palato mole, os pilares amigdalinos e a úvula encontram-se revestidos por epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, semelhante ao observado na cavidade oral. A base da língua e as amígdalas palatinas são cobertas por epitélio estratificado pavimentoso em continuidade com o da mucosa e que invagina, formando as criptas. Estas possuem uma membrana basal descontínua que facilita a interação entre os linfócitos, antigénios, células apresentadoras de antigénios e o epitélio, o que permite melhorar o papel imunológico deste tecido. Existem evidências de que estas características histológicas contribuem para diferenciação dos CCEO, uma vez os CCEO HPV-positivos têm uma localização preferencial pelas criptas amigdalinas e os restantes CCEO emergem sobretudo do epitélio superficial^[21, 22].

Epidemiologia e Fatores de risco

Os tumores da cabeça e pescoço são o sexto tumor mais comum em todo o mundo^[23]. Dentro da extensão anatómica que os tumores da cabeça e do pescoço englobam, os locais que foram associados ao HPV foram a orofaringe e, numa menor escala, a cavidade oral e a laringe.

As taxas de CCEO relacionadas com os fatores clássicos - tabaco e álcool- têm vindo a decrescer. Por exemplo, nos EUA, o carcinoma da orofaringe relacionado com o tabaco diminuiu 50% entre 1988 e 2004. Contudo, a incidência global de CCEO continua a aumentar devido à identificação do mais recente fator de risco envolvido, o HPV^[11]. De Martel, C. *et al.*, na recente análise em 2017, mencionaram que 38.000 casos dos tumores de cabeça e pescoço são atribuíveis ao HPV. Quanto aos tumores da orofaringe, aproximadamente 31% são causados por HPV (29.000 casos/ano) (Tabela 1^[24])^[24].

De acordo com uma revisão sistemática e meta-análise de artigos publicados até ao início de 2013, a estimativa global de CCEO relacionado com o HPV de alto risco foi próxima de 40%^[25]. No entanto, segundo várias meta-análises anteriores, o HPV tem

elevada heterogeneidade geográfica com diferentes percentagens de casos de CCEO atribuíveis ao HPV, variando entre <20% no Sul da Europa para mais de 60% na América do Norte^[24, 25]. Dentro dos genótipos de alto risco o HPV-16 é o mais comum, estando presente em mais de 90% dos CCEO^[13]. A incidência de CCEO tem vindo a aumentar nas últimas 3 décadas^[4, 11], estimando-se que em 2020 supere o cancro do colo do útero e se torne o tumor mais comum relacionado com HPV nos EUA^[11].

HPV-related cancer site (ICD-10 code)	Number of incident cases ^{1,2}	Number attributable to HPV	AF (%)	Number attributable to HPV by gender		Number attributable to HPV by age group		
				Males	Females	<50 years	50–69 years	70+ years
Cervix uteri (C53)	530,000	530,000	100.0	0	530,000	250,000	220,000	58,000
Anus ³ (C21)	40,000	35,000	88.0	17,000	18,000	6,600	17,000	12,000
Vulva ³ (C51)	34,000	8,500	24.9	0	8,500	2,600	3,400	2,500
Vagina ³ (C52)	15,000	12,000	78.0	0	12,000	2,500	5,200	3,900
Penis ³ (C60)	26,000	13,000	50.0	13,000	0	2,700	5,800	4,400
Oropharynx ³ (C01, C09–10)	96,000	29,000	30.8	24,000	5,500	5,400	18,000	6,000
Oral cavity ³ (C02–06)	200,000	4,400	2.2	2,900	1,500	890	2,300	1,200
Larynx (C32)	160,000	3,800	2.4	3,300	460	420	2,200	1,200
Other pharynx ³ (C12–C14)	78,000	0	0	–	–	–	–	–
Total HPV-related sites	1,200,000	630,000	54.0	60,000	570,000	270,000	270,000	88,000

¹Source: Globocan 2012.

²Numbers are rounded to two significant digits.

³These cancer sites were not directly available in GLOBOCAN 2012; therefore, data from the Cancer Incidence in Five Continents (CI5-X) database were used to estimate the corresponding number of cases.

Tabela 1 - Número de casos de tumores relacionados com o HPV e percentagem atribuível (FA) correspondente por local do tumor, sexo e idade; Mundo, 2012 (retirado de de Martel et al., 2017)

Os indivíduos com CCEO HPV-positivos por norma são mais jovens, predominantemente do sexo masculino, com idade média de diagnóstico aos 54 anos, menor exposição ao tabaco e álcool e com um estatuto socioeconómico e educacional superior^[15, 16]. Apesar de CCEO HPV-positivo ser caracterizado por um reduzido ou ausente consumo de tabaco e álcool, quando um indivíduo é fumador este tem maior probabilidade de CCEO HPV-positivo face aos não-fumadores^[26]. Na verdade, Anantharaman, D. *et al.* relataram que o tabagismo é associado ao aumento do risco de CCEO, independentemente do status do HPV. Isso sugere que o HPV e tabagismo são fatores de risco independentes, como já anteriormente tinham sido considerados^[27]. Existem diferenças étnicas/raciais nos CCEO HPV-positivo, com maior prevalência nos caucasianos e menor nos africanos^[28]. A infeção oral por HPV tende a ser superior nos homens com uma prevalência de 9,3% e nas mulheres de 5,5%^[29]. Por fim, os comportamentos sexuais são o maior fator de risco de infeções orais por HPV e estão fortemente relacionados com CCEO, sendo este um dos motivos para o crescimento da incidência destes carcinomas devido às mudanças que se têm vindo ao observar neste âmbito. Existe, em particular, uma associação com o número de parceiros sexuais ao longo da vida, sendo que um estudo de caso-controle mostrou uma associação

significativa entre indivíduos com história de 26 ou mais parceiros de sexo vaginal ou 6 ou mais parceiros de sexo oral^[14].

Da infecção à carcinogénese

O HPV é um vírus cujo genoma é constituído por DNA circular de cadeia dupla com uma cápside icosaédrica. Este está organizado em 3 regiões diferentes (Figura 2^[30]), de acordo com a sua localização e propriedades funcionais:

1. **região E (early)**, que codifica seis genes envolvidos em múltiplas funções, incluindo replicação viral e transformação celular (E1, E2, E4, E5, E6, E7);
2. **região L (late)**, que codifica os genes L1 e L2 em proteínas principal (L1) e secundária (L2) da cápside, respetivamente, contribuindo para a incorporação do DNA viral dentro do virião;

3. **região LCR (long control region)** encontra-se entre L1 e E6 e está envolvida no controlo da expressão génica e replicação viral que ocorre no núcleo da célula do hospedeiro e ainda inclui os locais de ligação aos fatores de transcrição^[30].

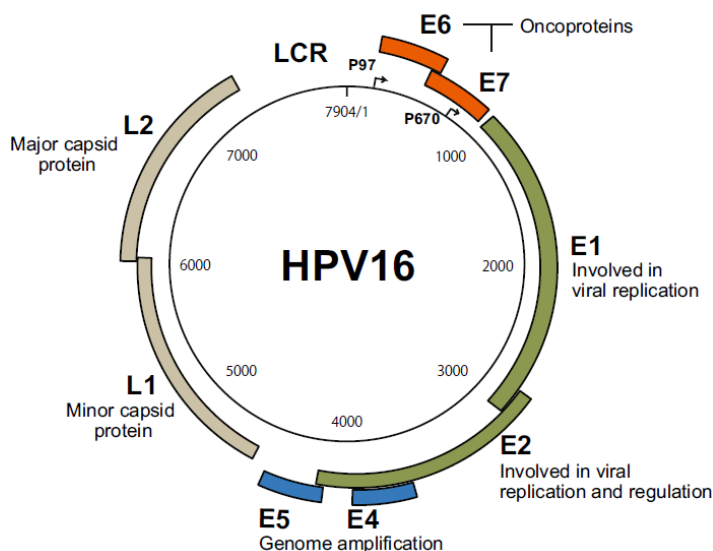


Figura 2 - Organização do genoma do HPV-16 e funções dos seus genes. A representação esquemática mostra a localização dos genes das regiões E (early), L (late) e LCR (long control region) (retirado de Moody C.A. et al.,2010)

Muito do conhecimento relacionado com a infeção por HPV nos tumores da cabeça e do pescoço é ainda hoje limitado, acabando por ser extrapolado a partir de modelos da carcinogénese do cancro do colo do útero. De acordo com o seu potencial oncogénico, são os genótipos HPV de alto risco que provocam os CCEO HPV-positivos, estando a sua maioria relacionados com o HPV-16, presente em mais de 90%, seguido, embora com menor valor, por outros genótipos de alto risco^[13, 14]. Estes genótipos têm

uma predileção pelos tecidos amigdalinos- amígdalas palatinas e linguais, mais especificamente ao nível das criptas amigdalinas. Embora as razões dessa preferência ainda permaneçam desconhecidas, existem possíveis explicações tais como:

1. a membrana basal descontínua, permitindo uma maior suscetibilidade à infecção por HPV^[21, 22];
2. as invaginações profundas das criptas amigdalinas que podem funcionar como reservatório para o HPV^[15];
3. as criptas do tecido linfóide podem favorecer a infecção persistente por HPV, possibilitando a interferência na vigilância imunológica com a indução da via de verificação imunológica PD-1:PD-L1, através da elevada expressão do ligando da proteína da morte celular programada 1 (PD-L1), para suprimir as respostas das células T ao HPV^[8, 16].

A maioria das infecções, provocadas pelo HPV, são normalmente eliminadas pelo sistema imunológico do hospedeiro dentro de 1 a 2 anos sem causar nenhum sintoma, mas quando estas não são eliminadas, a sua persistência pode conduzir a uma lesão pré-maligna que, se não regredir, eventualmente evoluirá para OPSCC^[5, 6].

A infecção por HPV ocorre através do acesso direto do vírus às camadas basais do epitélio, infetando-as, devido à membrana basal das amígdalas descontínua^[21, 22]. As células infetadas vão-se diferenciando e dirigindo para camadas epiteliais mais superficiais. Só após o alcance destas camadas é que se inicia a replicação viral, podendo ocorrer sob duas formas: por replicação episomal nas células epiteliais em diferenciação, com propagação para as células vizinhas ou por integração do genoma viral no DNA das células epiteliais mais diferenciadas, conduzindo ao início do processo de carcinogénese. Contudo, este processo pode levar décadas a ocorrer, uma vez que o vírus pode permanecer durante anos em estado de latência e só mais tarde evoluir para uma lesão maligna^[8].

Sabe-se que as proteínas E6 e E7 do HPV são consideradas oncoproteínas e têm uma contribuição significativa na carcinogénese, embora não mandatária, através da sua ligação a proteínas supressoras de tumores^[31]. A E6 liga-se à p53 e inativa-a, levando à interrupção dos mecanismos de reparo do DNA e por sua vez conduzindo a instabilidade cromossómica^[32]. A E7 liga-se à pRb (proteína da família do retinoblastoma) e induz a sua degradação, resultando na libertação e ativação do fator de transcrição E2F e

desregulação do “checkpoint G1/S”^[33]. Desta ligação de proteínas resulta a desregulação do ciclo celular e a inibição da apoptose. Como resultado da ativação de E7, a inibição do complexo pRb/E2F leva à libertação e sobreexpressão da p16^{INK4A} (ou p16, uma proteína supressora de tumor que se liga e inibe cinases dependentes de ciclinas 4 e 6). Esta proteína é considerada um biomarcador substituto da infecção por HPV. Além disso as vias moleculares p53 e pRb têm um efeito cooperativo. Todas estas as interações fazem com que o dano no DNA não seja controlado, promovendo instabilidade genómica.

Além das alterações genéticas através da instabilidade genómica e da integração do DNA do HPV no genoma do hospedeiro, as alterações epigenéticas podem levar à progressão da carcinogénese. Muitas alterações epigenéticas ocorrem durante as várias etapas da carcinogénese, tanto no vírus como no genoma do hospedeiro^[34]. Adicionalmente, através processos extrínsecos às células, o HPV tem a capacidade de retardar a resposta imunológica do hospedeiro, nomeadamente interfere nas vias de sinalização do interferão e na expressão de mediadores pró-inflamatórios^[35].

Caraterísticas clinicopatológicas

Como já referido, o CCEO HPV-positivo representa uma entidade biológica única, distinta dos restantes carcinomas da cabeça e do pescoço. Além das caraterísticas epidemiológicas, fatores de risco e carcinogénese, existem também diferenças importantes em termos clínicos e patológicos entre os tipos de CCEO.

Na apresentação clínica, os indivíduos com CCEO HPV-positivo tendem a apresentar-se com tumores primários no estadio inicial (T1 ou T2) com elevada tendência de disseminação para gânglios linfáticos cervicais, mais frequentemente para os níveis II e III (Cadeia Jugular Superior e Média) dessas cadeias ganglionares, mas sem metástases à distância, tendo melhor prognóstico quando comparados com os CCEO não relacionados com o HPV^[12]. Outra diferença está relacionada com os gânglios linfáticos, que no CCEO HPV-positivo tem maior probabilidade de ser quístico^[36]. Devido às caraterísticas das criptas amigdalinas e ao modo como ocorre a carcinogénese a partir da infecção por HPV, o CCEO nem sempre é exposto às camadas superficiais e passa despercebido, dificultando o diagnóstico pois o tumor está coberto com epitélio normal.

Por esse motivo, o CCEO HPV-positivo é responsável em número considerável pelos tumores de origem desconhecida com metástases de gânglios linfáticos cervicais^[37].

Atualmente, não existe nenhum rastreio validado para CCEO HPV-positivo o que pode levar a atrasos no diagnóstico uma vez que a maioria dos indivíduos são assintomáticos e só inicia investigação quando surgem sintomas suspeitos. A massa cervical é a manifestação inicial mais comum, seguida de garganta inflamada/irritada. Outros sintomas ou sinais, embora mais frequentes há medida que a doença avança e no CCEO não relacionado com o HPV, são a disfagia, massa visível, sensação globosa, odinofagia, otalgia, alterações na voz, hemorragia (Tabela 2^[38])^[38]. No entanto, muitos destes sintomas podem ser atribuídos a uma variedade de doenças benignas, adiando ainda mais o diagnóstico de CCEO HPV-positivo que, apesar de ter um melhor prognóstico em relação aos restantes carcinomas, quando realizado precocemente e com o correto encaminhamento tem melhores desfechos. Dada a crescente incidência destes tumores, perante indivíduos mais jovens e saudáveis, sem fatores de risco clássicos, deve existir uma menor limiar suspeição com encaminhamento precoce e realização de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) guiada por ecografia de massas cervicais^[39].

Symptom	Total Patients (n = 88) ^a	HPV Status		P Value
		Positive (n = 71)	Negative (n = 17)	
Neck mass	39 (44)	36 (51)	3 (18)	.02
Sore throat	29 (33)	20 (28)	9 (53)	.09 ^b
Dysphagia	14 (16)	7 (10)	7 (41)	.005
Visualized mass	11 (13)	10 (14)	1 (6)	.60 ^b
Globus sensation	9 (10)	7 (9)	2 (12)	.81 ^b
Odynophagia	8 (9)	4 (6)	4 (24)	.04
Otalgia	6 (7)	6 (8)	0	.48 ^b
Pain (nonspecific)	6 (7)	4 (5)	2 (12)	.32 ^b
Bleeding	3 (3)	1 (1)	2 (12)	.09 ^b
Weight loss	3 (3)	1 (1)	2 (12)	.09 ^b
Change in voice	3 (3)	2 (2)	1 (6)	.48 ^b
Asymptomatic	2 (2)	2 (2)	0	.99 ^b
Fatigue	1 (1)	1 (1)	0	.99 ^b

^a Numbers do not all sum up to 100% because patients often present with multiple symptoms.

^b Nonsignificant P values.

Tabela 2 – Sintomas e sinais iniciais mais comuns baseados no status do HPV (retirado de McIlwain et al., 2014)

Histologicamente, a maioria dos CCEO HPV-positivos não é queratinizado. Embora tenha sido considerado pouco diferenciado, paradoxalmente, tem um prognóstico mais favorável do que o carcinoma escamoso queratinizado^[40]. Por essa razão, o HPV-OPC não deve receber um grau histológico^[17, 18].

Prognóstico

Geralmente os indivíduos com CCEO HPV-positivo têm melhor prognóstico do que os não relacionados com o HPV, mesmo em fases avançadas da doença. O status do HPV está relacionado com um aumento da sobrevida e com melhor resposta ao tratamento^[41–43]. Uma revisão sistemática mostrou que a proteína p16^{INK4A}, sobreexpressa no CCEO HPV-positivo, está correlacionada com melhor prognóstico nos CCEO^[44].

Em comparação com o CCEO não relacionado com o HPV, os indivíduos com CCEO HPV-positivo tendem a ter melhor resposta à quimioterapia de indução e à quimiorradioterapia. O Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2399, um estudo prospectivo, examinou o impacto do status do HPV em indivíduos com CCECP nos estadios avançados (III e IV) tratados com quimioterapia de indução seguida de quimiorradioterapia. Após um acompanhamento médio de 39 meses, os CCECP HPV-positivos exibiram melhor sobrevida livre de progressão (PFS) e sobrevida global (OS) aos 2 anos em comparação com os não relacionados com o HPV (86 *vs* 51% e 95% *vs* 62%)^[41].

Ang, K.K. *et al.* também avaliou o valor prognóstico do status do HPV no CCEO numa análise retrospectiva. As taxas de OS e PFS aos 3 anos foram 82,4% e 73,7%, respetivamente para indivíduos com CCEO HPV-positivo e 57,1% e 43,4%, respetivamente para os indivíduos com CCEO não relacionados com o HPV. Neste estudo os indivíduos foram divididos em 3 grupos consoante o risco de morte face ao status do HPV, historial de tabagismo e carga tumoral. A taxa de sobrevida aos 3 anos para os grupos de baixo, médio e alto risco, foram 93%, 71% e 46%, respetivamente. A maioria dos indivíduos com CCEO HPV-positivo encontravam-se no grupo de baixo risco. Os indivíduos com CCEO HPV-positivo com historial de tabagismo e elevado envolvimento ganglionar (N2b-3) foram incluídos no grupo de risco intermediário, enquanto os pacientes com tumores não relacionados com o HPV apresentavam-se no grupo de alto risco. Perante esta análise dentro da população CCEO HPV-positivo, aqueles com história de tabagismo têm um prognóstico mais baixo independentemente do status do HPV^[42].

Em 2018, foi publicado um estudo que comparou os resultados da radioterapia em indivíduos com p16^{INK4A} positiva e negativa, constatando-se que PFS e OS eram

significativamente melhores nos indivíduos com p16^{INK4A} positiva. O consumo de tabaco afetou negativamente a sobrevida independentemente da p16^{INK4A}[45].

Avaliação e Estadiamento

Avaliação

De acordo com as *guidelines* vigentes, revistas em 2018, da *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN)^[46], existe um conjunto de etapas que devem ser realizadas:

1. **História clínica e exame objetivo:** Numa primeira fase, o diagnóstico deve iniciar-se por uma história clínica completa e exame físico. O exame físico deve incluir uma cuidadosa avaliação das amígdalas palatinas, base da língua e, caso presente, da massa cervical. Atualmente não existe qualquer tipo de rastreio para o CCEO HPV-positivo, como existe para o cancro do colo do útero, e por esse motivo esta fase de avaliação é de extrema importância para uma deteção o mais precoce possível. Se após esta investigação inicial existir suspeita de carcinoma da orofaringe dever-se-á prosseguir para uma investigação mais detalhada e encaminhamento para melhor orientação, nomeadamente com um otorrinolaringologista, para exame direto mais detalhado e geralmente auxiliado pela fibroscopia^[47].
2. **Biópsia das lesões:** A biópsia deve ser realizada no local do tumor primário ou caso este não seja identificado e existam nódulos cervicais, proceder a PAAF guiada por ecografia.
3. **Tomografia computadorizada (TC) e/ou ressonância magnética (RM) da área afetada** (Figura 3^[47]): Os exames de imagem hoje em dia são vitais para um bom

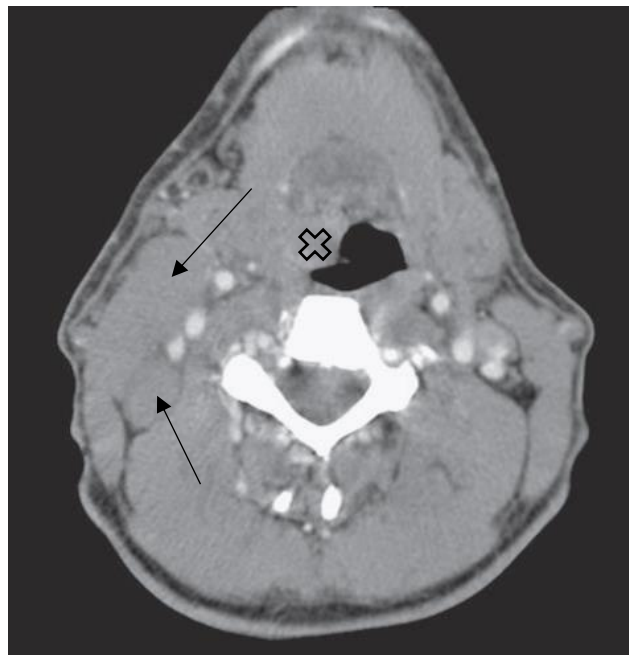


Figura 3 – Imagem axial de TC: tumor na base direita da língua (cruz) e adenopatia metastática cervical (setas) (retirado de Smith T.J., et al., 2017)

diagnóstico assim como para um correto e eficaz follow-up. A escolha entre estas duas técnicas é variável de acordo com as diferentes publicações, sendo certo que ambas são utilizadas como exames de imagem de primeira linha, fornecendo informação do tamanho, localização e morfologia do tumor e da massa cervical, se presente. A ecografia como tem uma menor resolução e é operador-dependente, não é um exame de primeira linha, no entanto é essencial para a deteção de nódulos da cavidade oral e orofaringe com características de malignidade e serve de auxílio como referido acima na realização de biópsias guiadas.

4. **Se clinicamente indicado:** realizar Tomografia por Emissão de Positrões (PET-scan) com 18F-FDG; avaliação dentária cuidada; aconselhamento nutricional, terapia da fala/deglutição e audiograma de acordo com a clínica do indivíduo e iatrogenia;
5. **Teste HPV através da imunohistoquímica (IHQ) da proteína p16^{INK4A}:** Este teste é simples, acessível a nível económico, reprodutível e com elevada sensibilidade sendo usado de forma rotineira. Este biomarcador é positivo se a coloração nuclear e citoplasmática for forte e difusa em 70% ou mais de células tumorais^[17]. No entanto, tem uma especificidade variável podendo ser complementado por outros testes para reduzir o risco de erro em tumores não relacionados com o HPV^[48]. A deteção de HPV pela *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ou hibridização *in situ* (ISH) são testes que podem ser utilizados. O *College of American Pathologist* recomenda que o teste HPV seja realizado a todos os indivíduos que foram recentemente diagnosticados com CCEO, independentemente do subtipo histológico^[49]. Por norma, os testes são realizados a partir de amostras de tecido embebido em parafina. Contudo têm sido investigadas alternativas para que seja possível a realização dos testes recorrendo a técnicas não invasivas, particularmente PAAF, citologia exfoliativa, saliva e plasma sanguíneo. Até ao momento todas estas técnicas têm-se demonstrado eficazes na determinação do status do HPV, mas são necessários mais estudos que avaliem de forma individual e combinada quanto à sua eficácia clinicamente. Futuramente a validação e otimização destas técnicas poderão ser úteis no rastreio, diagnóstico e monitorização do CCEO HPV-positivo, evitando a realização de biópsias invasivas^[50].
6. Consulta multidisciplinar, se indicado.

Estadiamento

O sistema de estadiamento TNM é um processo que tem por base a anatomia sendo que o “T” descreve a extensão do tumor primário, o “N” a presença ou não de gânglios linfáticos regionais e o “M” a existência ou não metástases à distância. O estadiamento implica a estratificação em grupos semelhantes com base em critérios anatómicos e não-anatómicos para auxiliar na estimativa do prognóstico e no planeamento do tratamento^[17].

Desde a primeira edição do TNM que o estadiamento dos tumores da cabeça e do pescoço tem vindo a evoluir em resposta ao melhor entendimento da biologia do tumor, comportamento da doença, aparecimento de novas doenças e melhor prognóstico face ao diagnóstico e seguimento^[51]. Até à 7ª edição, o CCEO era considerado como uma entidade única, tendo um sistema de classificação único para todos os CCEO. No entanto, com o reconhecimento da infeção por HPV no CCEO percebeu-se que este tinha um prognóstico mais favorável, com melhor resultado global após tratamento, maior taxa de sobrevida e um comportamento distinto face aos restantes, havendo a necessidade de diferenciar esse tumor dos restantes não relacionados com o HPV^[51, 52]. Em 2016 foi publicada a 8ª edição do Manual de Estadiamento do Cancro da AJCC com a introdução de várias alterações, nomeadamente o novo estadiamento para o CCEO HPV-positivo, distinto do CCEO não relacionado com o HPV, e que entraram em vigor em janeiro de 2018. Na edição anterior estava a ocorrer um desvio da classificação dos CCEO HPV-positivo, para estadios mais avançados, mas com um prognóstico mais favorável em relação aos não relacionados com o HPV. Perante a nova classificação para o vírus HPV, dos indivíduos que se encontravam no estadio III e IV, segundo a edição anterior, cerca de 48% migrariam para o estadio I na 8ª edição^[17].

Atualmente o estadiamento TNM dos CCEO HPV-positivos pode ser dividido em clínico (cTNM), aplicado a todos os indivíduos e patológico (pTNM), empregue apenas nos indivíduos submetidos a tratamento cirúrgico. Na categoria “T” estão os tumores de T0-T4, sendo que Tis foi removido e T4 deixou de ser subdividido em T4a e T4b dada a sobrevivência ser idêntica (Tabela 3^[53]). A categoria N sofreu algumas alterações. Segundo o cTNM, “N” concentra-se no tamanho e lateralidade dos gânglios linfáticos e tem por base o exame objetivo e métodos de imagem (Tabela 4^[53]). Na 7ª edição do TNM, os CCEO HPV-positivo com N1-2b apresentavam desfechos semelhantes e, portanto,

passaram a ser classificados como N1, que corresponde ao envolvimento dos gânglios linfáticos regionais ipsilaterais inferiores a 6 cm, independentemente do número. Atualmente, N2 corresponde ao envolvimento ganglionar contra-lateral ou bilateral inferior a 6 cm e todos os gânglios envolvidos com mais de 6 cm apresentam uma pior sobrevida integrando N3. Os diferentes estadios clínicos também foram ajustados: estadio I (T1-2 N0-1), estadio II (T1-2 N2 ou T3 N0-2), estadio III (T4 ou N3) e estadio IV (qualquer T e N com doença metastática à distância, M1) (Tabela 5^[53]). No pTNM, “N” é focado no número de gânglios linfáticos regionais envolvidos, assim N1 corresponde ao atingimento de 1 a 4 gânglios e N2 significa 5 ou mais gânglios envolvidos (Tabela 6^[53]). Relativamente aos estagios patológicos estes são: estadio I (T1-2, ≤ 4), II (T1-2, > 4 gânglios ou T3-4, ≤ 4 gânglios) e III (T3-4, > 4 gânglios) (Tabela 7^[53])^[17, 54].

T CATEGORY	T CRITERIA
T0	No primary identified
T1	Tumor 2 cm or smaller in greatest dimension
T2	Tumor larger than 2 cm but not larger than 4 cm in greatest dimension
T3	Tumor larger than 4 cm in greatest dimension or extension to lingual surface of epiglottis
T4	Moderately advanced local disease; tumor invades the larynx, extrinsic muscle of tongue, medial pterygoid, hard palate, or mandible or beyond ^b

Tabelas 3 – Categoria T da 8ª edição do TNM para o CCEO HPV-positivo (retirado de Amin, M.B. *et al.*, 2017)

N CATEGORY	N CRITERIA
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
N0	No regional lymph node metastasis
N1	One or more ipsilateral lymph nodes, none larger than 6 cm
N2	Contralateral or bilateral lymph nodes, none larger than 6 cm
N3	Lymph node(s) larger than 6 cm

Tabelas 4 – Categoria N da 8ª edição do TNM clínico para o CCEO HPV-positivo (retirado de Amin, M.B. *et al.*, 2017)

N CATEGORY	N CRITERIA
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed
pN0	No regional lymph node metastasis
pN1	Metastasis in 4 or fewer lymph nodes
pN2	Metastasis in more than 4 lymph nodes

Tabelas 6 – Categoria N da 8ª edição do TNM patológico para o CCEO HPV-positivo (retirado de Amin, M.B. *et al.*, 2017)

T CATEGORY	N CATEGORY			
	N0	N1	N2	N3
T0	NA	I	II	III
T1	I	I	II	III
T2	I	I	II	III
T3	II	II	II	III
T4	III	III	III	III

Tabelas 5 – Estadio anatómico/grupo prognóstico da 8ª edição do TNM clínico para o CCEO HPV-positivo (retirado de Amin, M.B. *et al.*, 2017)

T CATEGORY	N CATEGORY		
	N0	N1	N2
T0	NA	I	II
T1	I	I	II
T2	I	I	II
T3	II	II	III
T4	II	II	III

Tabelas 7 – Estadio anatómico/grupo prognóstico da 8ª edição do TNM patológico para o CCEO HPV-positivo (retirado de Amin, M.B. *et al.*, 2017)

Portanto, a 8ª edição para o CCEO HPV-positivo apresenta duas classificações distintas. É importante que os clínicos reconheçam e apliquem este novo estadiamento, já aplicado nas *guidelines* da NCCN, uma vez que estratifica os tumores apropriadamente face ao prognóstico e fornece uma estrutura para pesquisas clínicas. Contudo, a 8ª edição do TNM não deve influenciar as recomendações do tratamento pois existem alguns aspectos que continuam a merecer mais estudos, incluindo a presença e o grau de extensão extra- ganglionar e o grau de intensidade de tratamento. No futuro, as questões relacionadas com o tumor, o tratamento e o próprio indivíduo deverão ser sujeitas a mais pesquisas^[46].

Tratamento

Mudanças na Cirurgia

Historicamente, os tumores da cabeça e do pescoço, inclusive o CCEO, eram tratados através de cirurgia “aberta”, seguida de radioterapia adjuvante. Posteriormente, estudos prospetivos demonstraram que indivíduos tratados com radioterapia definitiva apresentavam resultados semelhantes de sobrevida, mas com taxas de complicações inferiores face à cirurgia. Nessa altura passou-se a considerar a radioterapia e a quimioterapia como terapêuticas de base para estes tumores^[55]. No entanto, na última década houve um progresso significativo na tecnologia cirúrgica permitindo às cirurgias minimamente invasivas, nomeadamente às cirurgias trans-orais como a microcirurgia trans-oral a laser (TLM) e a cirurgia robótica trans-oral (TORS) ganharem destaque no tratamento dos CCEO por serem menos invasivas, necessitarem menos tempo de internamento, menos traqueostomia e gastrostomia, terem uma recuperação mais rápida, com menos complicações e menor custo, sem comprometerem os resultados oncológicos^[56, 57]. Outra vantagem da cirurgia é a informação patológica, importante para adaptar os tratamentos adjuvantes, podendo haver ponderação em omitir este tratamento ou reduzir a dose^[58]. Por este motivo, a cirurgia voltou a reintegrar as estratégias terapêuticas de primeira linha destes tumores e está incluída nas atuais *guidelines* da NCCN^[46]. Os desfechos relacionados com o TORS são bastante favoráveis sendo possível obter margens cirúrgicas do tumor negativas até 98%^[59] dos casos e um controle locorregional superior 90%^[60]. Segundo alguns estudos, os indivíduos com CCEO T1-T3 tratados unicamente com TORS apresentam PFS de 92,3% aos 3 anos^[61].

Tratamento Atual

Apesar do atual estadiamento da 8ª edição da AJCC considerar a existência de duas entidades distintas para o CCEO, as guidelines para o tratamento da NCCN são baseadas nos critérios do estadiamento da 7ª edição da AJCC. Por esta razão o tratamento atual é idêntico para as duas entidades, não tendo ainda em consideração o status do HPV, exceto os indivíduos candidatos a ensaios clínicos que não necessitam de seguir as *guidelines*. O algoritmo do tratamento foi dividido em 3 categorias de estadiamento:

- I) **T1-2, N0-1** (se 1 nódulo <3 cm),
- II) **T3-4, N0-1**(se 1 nódulo <3 cm) e,
- III) **qualquer T, N1** (se 1 nódulo >3 ou 2 ou mais nódulos ≤6) ou **N2-N3**.

Se o CCEO for irresssecável, e a cirurgia não seja possível ou, na apresentação inicial tenha metástases à distância, o tratamento será incluído na categoria dos tumores muito avançados da cabeça e do pescoço. O primeiro tratamento dos tumores no estadio I, é radioterapia exclusiva ou ressecção cirúrgica “aberta” ou trans-oral primária e, eventualmente, como alternativa os tumores T2N1 podem tratar-se com quimiorradioterapia. Nos estadios mais avançados (II e III) indica-se quimiorradioterapia ou cirurgia “aberta” ou trans-oral primárias e, como alternativa pode ser usada quimioterapia de indução seguida de radioterapia ou quimiorradioterapia. Quando o tratamento inicial é a cirurgia, todos os indivíduos devem ser avaliados quanto à necessidade de terapia adjuvante. Caso no diagnóstico histológico haja referência a margem cirúrgica positiva e/ou extensão extra-ganglionar, estes devem ser submetidos a quimiorradioterapia adjuvante pós-operatória e, caso se verifiquem invasões vasculares/neurais, gânglios cervicais nos grupos IV/V opta-se por tratamento adjuvante com radioterapia ou quimiorradioterapia. A acrescentar, que o tratamento eletivo dos gânglios cervicais ipsilateral ou por ventura bilateral é quase sempre favorecido, dado o risco de envolvimento ganglionar cervical oculto, clinicamente negativo - o que pode ser resolvido pela dissecação cervical ou radioterapia. Foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) nos EUA e *European Medicines Agency* (EMA) na Europa, em 2006 o uso do cetuximab, um anticorpo monoclonal anti-EGFR, sendo possível a substituição da cisplatina na quimiorradioterapia por este anticorpo monoclonal^[46].

Todas as decisões de tratamento, sobretudo nos estadios mais avançados, são tomadas em ambiente multidisciplinar e têm em consideração as características do

indivíduo e os resultados funcionais esperados após intervenção. Existem dados que sugerem que os pacientes estão dispostos a suportar toxicidades significativas para pequenos ganhos na sobrevivência, e que as decisões de tratamento são complexas e multifatoriais^[62].

Segundo o estudo retrospectivo de Cheraghlou, S. *et al.*, indivíduos com CCEO HPV-positivo localmente avançado, submetidos a cirurgia com quimiorradioterapia adjuvante, têm maior sobrevida comparativamente aos submetidos à quimiorradioterapia primária, admitindo-se que o tratamento com terapia de modalidade tripla foi associado com melhor sobrevida em comparação à quimiorradioterapia primária. Este estudo veio corroborar os achados anteriores, mas que não eram dirigidos especificamente a tumores HPV-positivos^[63]. Apesar de em ensaios randomizados^[64], a incorporação da quimioterapia de indução seguida de radioterapia ou quimiorradioterapia no tratamento loco-regional não mostrar vantagens da OS, a quimioterapia de indução pode ser considerada em pacientes com tumor T3-4 e/ou doença nodal N2-3 uma vez que sua introdução antes do restante tratamento pode ter impacto no risco de disseminação metastática à distância^[46].

Desintensificação

É certo que o CCEO HPV-positivo, através de vários estudos retrospectivos, tem mostrado excelentes resultados no controlo loco-regional do tumor e na OS do indivíduo com os tratamentos recomendados, comparativamente com CCEO não relacionados com o HPV. No entanto, dada a substancial toxicidade e ao facto dos CCEO HPV-positivo terem melhor prognóstico, estão a ser avaliados novos esquemas de desintensificação do tratamento (tratamento menos intensivos) para melhorar a relação terapêutica, sem comprometer o resultado oncológico, ou seja, mantendo o excelente controlo do tumor e diminuindo a toxicidade^[65]. Os esquemas podem-se concentrar num ou mais componentes do programa de tratamento, particularmente redução do número de modalidade de tratamento, modulação da dose de radiação e introdução de novas terapias alternativas^[66].

Relativamente à cirurgia, a substituição da cirurgia “aberta” para trans-oral já é aceite nas *guidelines* da NCCN como forma possível de desintensificação dadas as características já mencionada.

Segundo uma meta-análise de 98 ensaios clínicos, os indivíduos com CCEO tratados com radioterapia com 70 Gy durante 6 a 7 semanas e com quimioterapia concomitante à base de cisplastina demonstram maior benefício na sobrevida^[64]. Atualmente, a decisão do tratamento adjuvante baseia-se na patologia após a ressecção do tumor primário, mas não está claro se a decisão da radioterapia pós-operatória e da sua dose deve ser baseada nas mesmas características patológicas tanto no CCEO HPV-positivo como no não relacionado com o HPV. Recentemente, na 8ª edição da AJCC a extensão extra- ganglionar, fator de mau prognóstico, deixou de integrar o estadiamento clínico e patológico do CCEO HPV-positivo, sendo só considerada nos CCEO não relacionados com o HPV. No entanto, uma análise demonstrou que os indivíduos com CCEO HPV-positivo submetidos a cirurgia primária e com margem negativas, a extensão extra-ganglionar foi um fator de risco independente de pior prognóstico nesses indivíduos^[67]. Dentro desta temática têm sido desenvolvidos ensaios de desintensificação da dose de radioterapia em indivíduos selecionados e de boa resposta nomeadamente após quimioterapia de indução e radioterapia adjuvante após cirurgia primária. Foram publicados os resultados do estudo ECOG 1308, no qual os indivíduos com CCEO HPV-positivo locorregionalmente avançado realizaram quimioterapia de indução de modo a seleccionar os candidatos a redução de dose, 54 Gy, de radioterapia. A PFS e a OS aos 2 anos foram de 80% e 94%, em indivíduos com resposta clínica completa no tumor primário e foi presenciado um bom perfil de toxicidade^[68]. Encontra-se a ser feito um outro estudo prospetivo de fase II, o ECOG 3311, com o objetivo de determinar a dose ideal de radioterapia adjuvante adaptada ao risco, dividindo os pacientes em três grupos de risco após o TORS e analisando a PFS aos 2 anos. O grupo de baixo risco, sem características patológicas adversas, não recebe tratamento adjuvante. O grupo de risco intermediário com margens cirúrgicas negativas, extensão extra-ganglionar <1 mm, 2-3 gânglios linfáticos positivos, invasão vascular/neurais é randomizado com diferentes doses (50 Gy ou 60 Gy) de radioterapia. O grupo de alto risco, com margens cirúrgicas positivas, extensão extra-ganglionar >1 mm ou ≥ 4 gânglios linfáticos positivos, recebe quimiorradioterapia *standart*^[69].

Até o momento, não existe nenhum ensaio clínico prospetivo randomizado publicado sobre o resultado oncológico e funcional a comparar a cirurgia trans-oral com a quimiorradioterapia, e por isso não há consenso sobre qual a melhor abordagem primária. Curiosamente, dois ensaios clínicos randomizados, EORTC 1420 e o

ORATOR, irão comparar a toxicidade relacionada ao tratamento do TORS e radioterapia ou quimioradioterapia^[70, 71].

Também a omissão da quimioterapia do esquema de tratamento adjuvante ou primário, tem sido tema de algum debate na literatura. Devido à maior radiosensibilidade dos CCEO HPV-positivos, a omissão da quimioterapia, mesmo em estádios avançados, tem sido proposta. Até ao momento, sabe-se que no estágio I um dos tratamentos é a radioterapia exclusiva, pois estudos demonstram taxas elevadas de sobrevida com este método. O estudo PATHOS está a investigar o benefício da quimioterapia adjuvante no grupo de alto risco sendo que os indivíduos com margens cirúrgicas positivas ou extensão extra-ganglionar são randomizados para radioterapia na dose de 60 Gy (abaixo da dose *standart*) com ou sem quimioterapia concomitante. A preocupação da abordagem com radioterapia isolada é o tumor com eventual metastização à distância oculto, não estar a ser tratado^[72].

Uma das novas terapêuticas que mais tem sido estudada é a administração de cetuximab. Evidências indicam que quando existe contra-indicação para o tratamento de radioterapia com quimioterapia à base de cisplatina, o cetuximab pode ser administrado em substituição da cisplatina. O cetuximab concomitante com a radioterapia, demonstrou melhorar a sobrevida no CCECP loco-regional avançado, sem aumentar a taxa de efeitos adversos a curto e a longo prazo, o que levou ao predomínio da opinião de que este anticorpo é menos tóxico do que a cisplastina^[73]. Contudo, não existe nenhum estudo finalizado que compare o cetuximab com a cisplatina. De-ESCALaTE, TROG 12.01 e RTOG 1016 são alguns dos estudos de fase III para avaliar e comparar os benefícios e a toxicidade destas duas terapêuticas. Embora esta abordagem terapêutica seja promissora, a eficácia do cetuximab no CCEO HPV-positivo é controversa. Este anticorpo monoclonal associado à radioterapia concomitante, num estudo, apresentou melhores resultados em indivíduos com CCEO não relacionados com o HPV^[74]. No CCEO HPV-positivo, Magrini, S.M. *et al.* demonstraram que a radioterapia com cisplatina semanal concomitante *versus* cetuximab semanal tem taxas semelhantes de mucosite e que o esquema radioterapia com cetuximab obrigou a mais interrupções do tratamento e eventos adversos graves ou mesmo fatais^[75]. Dado os resultados, a menor toxicidade do cetuximab em relação à cisplastina está a ser questionada. Dentro dos anticorpos monoclonais dirigidos ao mesmo recetor, o panitumumab, nimotuzumab e zalitumumab

são possíveis alternativas ao tratamento que estão sob investigação face ao aparecimento de mutações que conferem resistência ao cetuximab^[76].

Antes de qualquer método de desintensificação ser implementado, devemos aguardar os resultados de estudos prospectivos randomizados para não comprometer os excelentes resultados nesses pacientes.

Novas Terapêuticas

Embora a maioria dos indivíduos com CCEO HPV-positivo apresente resultados favoráveis, uma proporção ainda tem mau prognóstico. Esta necessidade direcionou as pesquisas clínicas para novas estratégias terapêuticas, focando-se sobre o microambiente único deste tumor, como por exemplo a imunoterapia.

Vários inibidores do “checkpoint” imunológico têm sido, nos últimos tempos, alvo de investigação, nomeadamente o nivolumab, pembrolizumab, durvalumab, atezolizumab e avelumab. Os dois primeiros inibidores já fazem parte das alternativas possíveis do tratamento do CCECP recorrente ou metastático^[46, 77]. No entanto, acredita-se que, devido a vários fatores, o CCEO quando relacionado com o HPV beneficia mais da imunoterapia. Primeiro, a presença do vírus conduz à expressão de antígenos virais que podem ser reconhecidos como estranhos pelo sistema imunológico do indivíduo, levando ao reconhecimento e ativação imunológica. Em segundo lugar, a localização preferencial pelos tecidos amigdalinos leva a níveis mais elevados de linfócitos T CD8+ tumorais e de PD-1^[78]. Um ensaio clínico randomizado fase III mostrou que o tratamento com nivolumab, um anticorpo monoclonal anti-PD-1 (proteína de morte celular programada 1) era favorável independentemente do status p16^{INK4A}, embora o benefício tenha sido mais marcado para o CCEO HPV-positivo^[78]. Outra investigação, Keynote-012 através de um anticorpo anti-PD-1 semelhante, pembrolizumab, também observou uma resposta mais eficaz ao pembrolizumab em pacientes com CCEO HPV-positivo recorrente ou metastático do que o CCECP HPV-positivo recorrente ou metastático^[79]. Vários ensaios que visam explorar o papel da imunoterapia como tratamento primário neste tipo de tumores estão a decorrer.

Dentro da imunoterapia, também as vacinas terapêuticas estão a surgir como novas estratégias para o CCEO HPV-positivo. Através das vacinas ocorre uma ativação do sistema imunitário, incluído células T CD4+ e CD8+, que podem reconhecer e eliminar as células infetadas pelo vírus HPV^[80]. Desta forma, E6 e/ou E7 do HPV são

antígenos para a qual a vacina é dirigida de modo a induzir a resposta imunitária contra as células tumorais^[76]. Diversas estratégias têm sido investigadas incluindo vacinas baseadas em vetor vivo, vacinas baseadas em proteínas/péptidos e vacinas baseadas em ácidos nucleicos (DNA e RNA)^[81]. Estão em andamento múltiplos ensaios clínicos para cada tipo de vacinas, sendo mencionado um exemplo de cada. Os oncogenes E6/E7 têm sido alvos de imunoterapia em diversos estudos, com eficácia clínica limitada. Novos antígenos foram alvo de investigação, nomeadamente, o ensaio VicOryx usou a vacina com péptidos p16^{INK4a} com o objetivo de monitorar a toxicidade e imunogenicidade, tendo demonstrado que esta vacina é segura e bem tolerada, cujas respostas imunitárias contra p16^{INK4a} podem ser induzidas pela vacina peptídica, não existindo sintomas auto- imunes clínicos acompanhantes. A resposta imune detetável foi sobretudo à custa das células T CD4+ e dos anticorpos, havendo um reduzido número de indivíduos com um aumento das células T CD8+^[82]. Eventualmente, é por este motivo que se considera a vacina como não eficaz pois é aceite que células T CD8 + estão diretamente envolvidas na resposta citotóxica contra os tumor mas o papel das células T CD4 + permanece controverso. Um estudo de fase II a decorrer tem como objetivo analisar a eficácia da vacina ADXS11-001 (vetor vivo atenuado da bactéria *Listeria monocytogenes*) baseada na estimulação do sistema imunitário em indivíduos com CCEO HPV-positivo antes da cirurgia trans-oral. Os resultados disponíveis até agora demonstram efeitos imunológicos induzidos pelo tratamento promissores, incluindo diminuição da expressão de Tregs e PD-1/PD-L1^[83]. A Inovio está a realizar um ensaio clínico de fase I/IIa avaliando a atividade a segurança e a imunogenicidade da vacina MEDI0457, vacina de ADN que codifica os antígenos E6/E7 em pacientes com CCECP HPV-positivo recorrente /metastático incurável submetidos previamente a cirurgia ou quimiorradioterapia. Dados disponibilizados mostram que a vacina desencadeou uma resposta imunológica com sucesso, em 4 dos 5 indivíduos analisados, com uma PFS no último seguimento, entre 9 a 24 meses^[84]. Há evidências de que o tratamento com vacinas terapêuticas representa uma estratégia favorável, com toxicidade mínima, essencialmente em indivíduos com CCEO recorrente/metastático incurável, contudo as respostas clínicas eficazes até agora foram limitadas. Será necessário aguardar pelos resultados dos ensaios em curso, que irão informar grandemente futuros esforços de pesquisa e estratégias clínicas.

A terapia de prótons, associada a toxicidade reduzida, também poderá a vir a ser uma candidata às futuras terapias do CCEO HPV-positivo. A eficácia desta técnica deve-

se à forma como a energia é aplicada numa profundidade prescrita permitindo um tratamento que incide com maior precisão sobre o tumor e reduz a dose recebida pelos tecidos adjacentes. É uma estratégia bastante cara e provavelmente não é benéfica para todos os indivíduos. Portanto, para esta abordagem estão em estudo uma seleção de pacientes segundo um modelo, no qual a redução esperada da toxicidade é calculada e caso esta seja superior a um limite pré-definido os indivíduos seriam submetidos à terapia com prótons^[85]. No futuro, essa estratégia de tratamento e seleção precisa ser validada com a incorporação da análise de custo-efetividade, bem como os resultados relatados pelo paciente.

Estratégias de Prevenção

Ainda não existem métodos de rastreio para a detecção precoce do carcinoma da orofaringe, não obstante a vacina contra o HPV ter mostrado, apesar dos escassos estudos, um elevado potencial para a prevenção do CCEO HPV-positivo^[86].

O CCEO HPV-positivo tem um conjunto diferente de fatores de risco dos carcinomas convencionais da cabeça e pescoço. Tornou-se assim premente educar os pacientes sobre os fatores de risco associados ao carcinoma da orofaringe recomendando práticas sexuais seguras, e hábitos para minimizar a exposição tabágica e consumo de álcool^[87].

Estudos indicam que existe uma ligação evidente entre o comportamento sexual oral e a infecção por HPV orofaríngea. Uma revisão sistemática em 2014 relatou que 50% a 80% de adolescentes e adultos jovens têm práticas de sexo oral, o que tem vindo a contribuir para o crescente aumento do CCEO^[88]. Assim, também ações de saúde pública para a modificação do comportamento sexual, nomeadamente o uso de preservativos, devem ser adotadas. Ainda que a proteção completa possa não ser possível, o uso de preservativo está associado à redução da transmissão do HPV entre parceiros sexuais^[89]. Outras medidas preventivas, como as vacinas contra o HPV, podem reduzir o risco de infecção pelo HPV e, teoricamente, diminuir a incidência de CCEO HPV-positivo.

Existem atualmente três vacinas contra o HPV, aprovadas pela FDA que têm vindo a ser estudadas com base em ensaios randomizados para avaliar a sua eficácia. Existe ainda outra entidade para regulamentar e aprovar o lançamento das vacinas no

mercado, na União Europeia, a EMA. A vacina quadrivalente (Gardasil) foi aprovada em 2006 e previne as infeções por HPV dos tipos 6, 11, 16 e 18, enquanto que a vacina bivalente (Cervarix) aprovada em 2009, previne a infeção por HPV, tipos 16 e 18. A outra vacina, vacina 9-valente (Gardasil 9) aprovada em 2014, previne contra os tipos de HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 53 e 58^[90, 91].

O sucesso dos programas de rastreio e vacinação para diminuição do cancro do colo do útero traduz-se na esperança de que estratégias semelhantes possam vir a ser adotadas para o CCEO HPV-positivo. Levando em linha de conta que o HPV-16, é responsável pelo predomínio dos tumores, e sendo o CCEO HPV-positivo mais comum no sexo masculino, supõe-se que a vacinação, à semelhança do que acontece com o sexo feminino, deve, em teoria diminuir incidência de CCEO HPV-positivo^[92].

Ainda embora que a vacinação exclusivamente feminina possa oferecer proteção ao sexo masculino na prevenção do CCEO, esse efeito só estará presente quando a vacinação feminina atingir uma cobertura superior a 80%^[93].

A avaliação da eficácia da vacinação contra o HPV na prevenção do cancro da cabeça e pescoço é bastante incerta por diversas razões, nomeadamente os dados insuficientes de apoio e o facto de existir ainda uma baixa cobertura da vacinação contra o HPV no sexo masculino^[94]. A correlação do CCEO com outros tipos de HPV de alto risco, e as sinergias da infeção pelo HPV com fatores de risco ambientais e inflamação crónica também precisam de ser devidamente exploradas por forma a identificar potenciais terapias para quem desenvolve CCEO^[14].

Não obstante a eficácia já demonstrada de vacinação, as vacinas apenas se encontram recomendadas para ambos os sexos, em alguns países. No caso de Portugal, a vacina é gratuita e está incluída no Plano Nacional de Vacinação apenas para o sexo feminino. Sendo que, o HPV é um vírus que é neutro no género e no comportamento sexual, espera-se que o mesmo seja, de futuro, também neutro na proteção e erradicação de doenças provocadas pelo HPV.

Conclusão

Enquanto os CCECP associados a fatores de risco clássicos têm vindo a diminuir, dados epidemiológicos têm mostrado que o CCEO, subtipo destes tumores, não tem

seguido o mesmo padrão. A incidência dos CCEO está a aumentar significativamente a nível mundial. Este aumento deve-se ao reconhecimento da infeção por HPV como uma entidade única nos CCEO. Os indivíduos, por norma, são mais jovens, maioria do sexo masculino, caucasianos, sem exposição (ou baixa) ao tabaco e álcool, com práticas sexuais regulares por sexo oral e apresentam um melhor prognóstico quer no tratamento quer na sobrevida, comparativamente ao CCEO não relacionado com o HPV. Tem existido um enorme investimento na compreensão deste tipo de vírus, nos mecanismos envolvidos na progressão da carcinogénese e no reconhecimento precoce e correto encaminhamento dos indivíduos para melhores tratamentos, com o intuito de melhorar a qualidade de vida e diminuir a morbilidade e mortalidade destes indivíduos.

Com o aumento da incidência urge a necessidade de implementar testes de diagnóstico para deteção do HPV no CCEO, com uma clara eficácia. Vários são os métodos de diagnóstico disponíveis, contudo a sua eficácia clínica necessita de mais estudos e por isso teste através da IHC da proteína p16^{INK4A} continua a ser a técnica recomendada dada a elevada sensibilidade e especificidade deste biomarcador.

A elaboração do novo algoritmo do estadiamento, específico para o CCEO HPV-positivo, publicado na 8ª edição do Manual de Estadiamento do Cancro da AJCC, reflete com maior precisão o prognóstico e sobrevida dos indivíduos. No entanto, a abordagem terapêutica dos CCEO HPV-positivos mantêm-se igual aos restantes CCEO e apesar das excelentes respostas ao tratamento, a morbilidade associada nestes indivíduos continua a ser uma preocupação. Para além das novas técnicas cirúrgicas serem particularmente relevantes, vários ensaios clínicos direccionados para os tratamentos de desintensificação estão em andamento, com o objetivo diminuir a toxicidade a longo prazo e preservar a qualidade de vida, sem sacrificar o controlo da doença e as taxas de sobrevida. Novas abordagens terapêuticas também estão a ser exploradas como a imunoterapia e terapia de prótons, com o intuito de melhores desfechos. Os resultados até agora disponíveis têm-se demonstrado bastante promissores, pelo que é provável que no futuro a abordagem dos CCEO HPV-positivos seja mais individualizada com base nas características dos indivíduos e dos tumores.

Por último, perante a ausência de ferramentas de rastreio, as medidas preventivas assumem uma grande importância. Atualmente, a vacinação contra o HPV, recomendada até agora para outros tipos de tumores, parece apresentar um potencial benefício na

redução do risco dos CCEO HPV-positivos, por ser dirigida a genótipos que também estão envolvidos nestes tumores. Não obstante, mais estudos são ainda necessários realizar. A consciencialização e o aconselhamento dos fatores de risco, um alto índice de suspeição para estes tumores e o aconselhamento dos pais e adolescentes sobre a importância das profiláticas contra o HPV são vitais para melhores resultados serem alcançado.

Agradecimentos

Agradeço ao Prof. Dr. Óscar Dias e ao Dr. Marco Simão pelo entusiasmo com que receberam a minha proposta para a realização deste trabalho e também pelo apoio ao longo da sua elaboração.

Bibliografia

1. Chung, C.H., Bagheri, A. e D'Souza, G. (2014) Epidemiology of oral human papillomavirus infection. *Oral oncology*, **50**, 364–369.
2. Gao, G. e Smith, D.I. (2016) Human Papillomavirus and the Development of Different Cancers. *Cytogenetic and genome research*, **150**, 185–193.
3. Brianti, P., De Flammis, E. e Mercuri, S.R. (2017) Review of HPV-related diseases and cancers. *The new microbiologica*, **40**, 80–85.
4. Javadi, P., Sharma, A., Zahnd, W.E. e Jenkins, W.D. (2017) Evolving disparities in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Cancer causes & control : CCC*, **28**, 635–645.
5. Saraiya, M., Unger, E.R., Thompson, T.D., Lynch, C.F., Hernandez, B.Y., Lyu, C.W., et al. (2015) US assessment of HPV Types in cancers: Implications for current and 9-valent HPV vaccines. *Journal of the National Cancer Institute*, **107**.
6. Bodily, J. e Laimins, L.A. (2011) Persistence of human papillomavirus infection: keys to malignant progression. *Trends in microbiology*, **19**, 33–39.
7. Allen, C.T., Lewis, J.S.J., El-Mofty, S.K., Haughey, B.H. e Nussenbaum, B. (2010) Human papillomavirus and oropharynx cancer: biology, detection and clinical implications. *The Laryngoscope*, **120**, 1756–1772.
8. Doorbar, J., Quint, W., Banks, L., Bravo, I.G., Stoler, M., Broker, T.R., et al. (2012) The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*, **30 Suppl 5**, F55-70.
9. Wasserman, J.K., Rourke, R., Purgina, B., Caulley, L., Dimitroulakis, J., Corsten, M., et al. (2017) HPV DNA in saliva from patients with SCC of the head and neck is specific for p16-positive oropharyngeal tumours. *Journal of otolaryngology - head & neck surgery = Le Journal d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie cervico-faciale*, **46**, 3.
10. Jemal, A., Simard, E.P., Dorell, C., Noone, A.-M., Markowitz, L.E., Kohler, B., et al. (2013) Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2009, featuring the burden and trends in human papillomavirus(HPV)-associated cancers and HPV vaccination coverage levels. *Journal of the National Cancer Institute*, **105**, 175–201.
11. Chaturvedi, A.K., Engels, E.A., Pfeiffer, R.M., Hernandez, B.Y., Xiao, W., Kim, E., et al. (2011) Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **29**, 4294–4301.
12. O'Sullivan, B., Huang, S.H., Su, J., Garden, A.S., Sturgis, E.M., Dahlstrom, K., et al. (2016) Development and validation of a staging system for HPV-related oropharyngeal cancer by the International Collaboration on Oropharyngeal cancer Network for Staging (ICON-S): a multicentre cohort study. *The Lancet. Oncology*, **17**, 440–451.
13. Gillison, M.L., Castellsague, X., Chaturvedi, A., Goodman, M.T., Snijders, P., Tommasino, M., et al. (2014) Eurogin Roadmap: comparative epidemiology of HPV infection and associated cancers of the head and neck and cervix. *International journal of cancer*, **134**, 497–507.
14. D'Souza, G., Kreimer, A.R., Viscidi, R., Pawlita, M., Fakhry, C., Koch, W.M., et al. (2007) Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *The New England journal of medicine*, **356**, 1944–1956.
15. Elrefaey, S., Massaro, M.A., Chiocca, S., Chiesa, F. e Ansarin, M. (2014) HPV in oropharyngeal cancer: the basics to know in clinical practice. *Acta otorhinolaryngologica Italica : organo ufficiale della Societa italiana di otorinolaringologia e chirurgia cervico-facciale*, **34**, 299–309.
16. Evans, M., Newcombe, R., Fiander, A., Powell, J., Rolles, M., Thavaraj, S., et al. (2013) Human Papillomavirus-associated oropharyngeal cancer: an observational study of diagnosis, prevalence and prognosis in a UK population. *BMC cancer*, **13**, 220.
17. Lydiatt, W.M., Patel, S.G., O'Sullivan, B., Brandwein, M.S., Ridge, J.A., Migliacci, J.C., et al. (2017) Head and Neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: a cancer journal for clinicians*, **67**, 122–137.

18. O'Sullivan, B., Lydiatt, W., Haughey, B. e et al (2017) HPV- mediated (p16+) oropharyngeal cancer. Em Amin, M., Edge, S., Greene, S., et al. AJCC cancer staging manual, 8th Edition. Springer, New York, 113–121.
19. Westra, W.H. e Lewis, J.S.J. (2017) Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Oropharynx. *Head and neck pathology*, **11**, 41–47.
20. Yakin, M., Seo, B., Hussaini, H., Rich, A. e Hunter, K. (2018) Human papillomavirus and oral and oropharyngeal carcinoma: the essentials. *Australian Dental Journal*, **0**, 1-8
21. Kim, S.-H., Koo, B.-S., Kang, S., Park, K., Kim, H., Lee, K.R., et al. (2007) HPV integration begins in the tonsillar crypt and leads to the alteration of p16, EGFR and c-myc during tumor formation. *International journal of cancer*, **120**, 1418–1425.
22. Syrjanen, S. (2004) HPV infections and tonsillar carcinoma. *Journal of clinical pathology*, **57**, 449–455.
23. Koshiol, J., Lindsay, L., Pimenta, J.M., Poole, C., Jenkins, D. e Smith, J.S. (2008) Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia: a systematic review and meta-analysis. *American journal of epidemiology*, **168**, 123–137.
24. de Martel, C., Plummer, M., Vignat, J. e Franceschi, S. (2017) Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *International Journal of Cancer*, **141**, 664–670.
25. Ndiaye, C., Mena, M., Alemany, L., Arbyn, M., Castellsagué, X., Laporte, L., et al. (2014) HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Oncology*, **15**, 1319–1331.
26. Chaturvedi, A.K., D'Souza, G., Gillison, M.L. e Katki, H.A. (2016) Burden of HPV-positive oropharynx cancers among ever and never smokers in the U.S. population. *Oral oncology*, **60**, 61–67.
27. Anantharaman, D., Muller, D.C., Lagiou, P., Ahrens, W., Holcátová, I., Merletti, F., et al. (2016) Combined effects of smoking and HPV16 in oropharyngeal cancer. *International Journal of Epidemiology*, **45**, 752–761.
28. Liederbach, E., Kyrillos, A., Wang, C.-H., Liu, J.C., Sturgis, E.M. e Bhayani, M.K. (2017) The national landscape of human papillomavirus-associated oropharynx squamous cell carcinoma. *International journal of cancer*, **140**, 504–512.
29. Tam, S., Fu, S., Xu, L., Krause, K.J., Lairson, D.R., Miao, H., et al. (2018) The epidemiology of oral human papillomavirus infection in healthy populations: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncology*, **82**, 91–99.
30. Moody, C.A. e Laimins, L.A. (2010) Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature reviews. Cancer*, **10**, 550–560.
31. Leemans, C.R., Braakhuis, B.J.M. e Brakenhoff, R.H. (2011) The molecular biology of head and neck cancer. *Nature reviews. Cancer*, **11**, 9–22.
32. Havre, P.A., Yuan, J., Hedrick, L., Cho, K.R. e Glazer, P.M. (1995) p53 inactivation by HPV16 E6 results in increased mutagenesis in human cells. *Cancer research*, **55**, 4420–4424.
33. McLaughlin-Drubin, M.E., Park, D. e Munger, K. (2013) Tumor suppressor p16INK4A is necessary for survival of cervical carcinoma cell lines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **110**, 16175–16180.
34. Lu, Q., Ma, D. e Zhao, S. (2012) DNA methylation changes in cervical cancers. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, **863**, 155–176.
35. Stanley, M. (2006) Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine*, **24 Suppl 1**, S16-22.
36. Goldenberg, D., Begum, S., Westra, W.H., Khan, Z., Sciubba, J., Pai, S.I., et al. (2008) Cystic lymph node metastasis in patients with head and neck cancer: An HPV-associated phenomenon. *Head & neck*, **30**, 898–903.
37. Ebisumoto, K., Okami, K., Sakai, A., Sugimoto, R. e Iida, M. (2016) Successful detection of a minute tonsillar cancer lesion on transoral examination with narrow band imaging: A report of 2 cases. *Head & neck*, **38**, E2421–E2424.

38. McIlwain, W.R., Sood, A.J., Nguyen, S.A. e Day, T.A. (2014) Initial symptoms in patients with HPV-positive and HPV-negative oropharyngeal cancer. *JAMA otolaryngology- head & neck surgery*, **140**, 441–447.
39. Khalid, M.B., Ting, P., Pai, A., Russo, J.L., Bakst, R., Chai, R.L., et al. (2018) Initial presentation of human papillomavirus-related head and neck cancer: A retrospective review. *Laryngoscope*.
40. Lewis, J.S.J. (2017) Morphologic diversity in human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinoma: Catch Me If You Can! *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, **30**, S44–S53.
41. Fakhry, C., Westra, W.H., Li, S., Cmelak, A., Ridge, J.A., Pinto, H., et al. (2008) Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *Journal of the National Cancer Institute*, **100**, 261–269.
42. Ang, K.K., Harris, J., Wheeler, R., Weber, R., Rosenthal, D.I., Nguyen-Tan, P.F., et al. (2010) Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *The New England journal of medicine*, **363**, 24–35.
43. Nguyen-Tan, P.F., Zhang, Q., Ang, K.K., Weber, R.S., Rosenthal, D.I., Soulieres, D., et al. (2014) Randomized phase III trial to test accelerated versus standard fractionation in combination with concurrent cisplatin for head and neck carcinomas in the Radiation Therapy Oncology Group 0129 trial: long-term report of efficacy and toxicity. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **32**, 3858–3866.
44. Sedghizadeh, P.P., Billington, W.D., Paxton, D., Ebeed, R., Mahabady, S., Clark, G.T., et al. (2016) Is p16-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma associated with favorable prognosis? A systematic review and meta-analysis. *Oral oncology*, **54**, 15–27.
45. Lassen, P., Lacas, B., Pignon, J.-P., Trotti, A., Zackrisson, B., Zhang, Q., et al. (2018) Prognostic impact of HPV-associated p16-expression and smoking status on outcomes following radiotherapy for oropharyngeal cancer: The MARCH-HPV project. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*, **126**, 107–115.
46. Colevas, A.D., Yom, S.S., Pfister, D.G., Spencer, S., Adelstein, D., Adkins, D., et al. (2018) NCCN Guidelines Insights: Head and Neck Cancers, Version 1.2018. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*, **16**, 479–490.
47. Smith, T.J., Mendez, A., Donald, C. e Nagel, T.H. (2017) HPV-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Journal of the American Academy of Physician Assistants*, **30**, 14–19.
48. Rietbergen, M.M., Snijders, P.J.F., Beekzada, D., Braakhuis, B.J.M., Brink, A., Heideman, D.A.M., et al. (2014) Molecular characterization of p16-immunopositive but HPV DNA-negative oropharyngeal carcinomas. *International journal of cancer*, **134**, 2366–2372.
49. Fakhry, C., Lacchetti, C., Rooper, L.M., Jordan, R.C., Rischin, D., Sturgis, E.M., et al. (2018) Human Papillomavirus Testing in Head and Neck Carcinomas: ASCO Clinical Practice Guideline Endorsement of the College of American Pathologists Guideline. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **36**, 3152–3161.
50. Qureishi, A., Mawby, T., Fraser, L., Shah, K.A., Møller, H. e Winter, S. (2017) Current and future techniques for human papilloma virus (HPV) testing in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, **274**, 2675–2683.
51. Huang, S.H. e O’Sullivan, B. (2017) Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. *Current Treatment Options in Oncology*, **18**.
52. Ang, K.K. e Sturgis, E.M. (2012) Human papillomavirus as a marker of the natural history and response to therapy of head and neck squamous cell carcinoma. *Seminars in radiation oncology*, **22**, 128–142.
53. Amin, M., Edge, S., Greene, F. e et al (2017) AJCC Cancer Staging Manual. 8th ed., Springer, New York.
54. Lydiatt, W., O’Sullivan, B. e Patel, S. (2018) Major Changes in Head and Neck Staging for 2018. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*, **38**, 505–514.
55. Ducatman, B.S. (2018) The role of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinoma.

56. Wilkie, M.D., Upile, N.S., Lau, A.S., Williams, S.P., Sheard, J., Helliwell, T.R., et al. (2016) Transoral laser microsurgery for oropharyngeal squamous cell carcinoma: A paradigm shift in therapeutic approach. *Head & neck*, **38**, 1263–1270.
57. Hutcheson, K.A., Holsinger, F.C., Kupferman, M.E. e Lewin, J.S. (2015) Functional outcomes after TORS for oropharyngeal cancer: a systematic review. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, **272**, 463–471.
58. Parsons, J.T., Mendenhall, W.M., Stringer, S.P., Amdur, R.J., Hinerman, R.W., Villaret, D.B., et al. (2002) Squamous cell carcinoma of the oropharynx: surgery, radiation therapy, or both. *Cancer*, **94**, 2967–2980.
59. Weinstein, G.S., O'Malley, B.W.J., Cohen, M.A. e Quon, H. (2010) Transoral robotic surgery for advanced oropharyngeal carcinoma. *Archives of otolaryngology-head & neck surgery*, **136**, 1079–1085.
60. Hurtuk, A., Agrawal, A., Old, M., Teknos, T.N. e Ozer, E. (2011) Outcomes of transoral robotic surgery: a preliminary clinical experience. *Otolaryngology-head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, **145**, 248–253.
61. Olsen, S.M., Moore, E.J., Laborde, R.R., Garcia, J.J., Janus, J.R., Price, D.L., et al. (2013) Transoral surgery alone for human-papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Ear, nose, & throat journal*, **92**, 76–83.
62. Windon, M.J., D'Souza, G. e Fakhry, C. (2018) Treatment preferences in human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer. *Future Oncology*, **14**, 2521–2530.
63. Cheraghlou, S., Yu, P.K., Otremba, M.D., Park, H.S., Bhatia, A., Zogg, C.K., et al. (2018) Treatment deintensification in human papillomavirus-positive oropharynx cancer: Outcomes from the National Cancer Data Base. *Cancer*, **124**, 717–726.
64. Pignon, J.P., Bourhis, J., Domenge, C. e Designe, L. (2000) Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma: three meta-analyses of updated individual data. MACH-NC Collaborative Group. Meta-Analysis of Chemotherapy on Head and Neck Cancer. *Lancet (London, England)*, **355**, 949–955.
65. Chera, B.S. e Amdur, R.J. (2018) Current Status and Future Directions of Treatment Deintensification in Human Papilloma Virus-associated Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Seminars in Radiation Oncology*, **28**, 27–34.
66. Kelly, J.R., Husain, Z.A. e Burtneess, B. (2016) Treatment de-intensification strategies for head and neck cancer. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, **68**, 125–133.
67. An, Y., Park, H.S., Kelly, J.R., Stahl, J.M., Yarbrough, W.G., Burtneess, B.A., et al. (2017) The prognostic value of extranodal extension in human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer*, **123**, 2762–2772.
68. Marur, S., Li, S., Cmelak, A.J., Gillison, M.L., Zhao, W.J., Ferris, R.L., et al. (2017) E1308: Phase II Trial of Induction Chemotherapy Followed by Reduced-Dose Radiation and Weekly Cetuximab in Patients With HPV-Associated Resectable Squamous Cell Carcinoma of the Oropharynx- ECOG-ACRIN Cancer Research Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **35**, 490–497.
69. Holsinger, F.C. e Ferris, R.L. (2015) Transoral Endoscopic Head and Neck Surgery and Its Role Within the Multidisciplinary Treatment Paradigm of Oropharynx Cancer: Robotics, Lasers, and Clinical Trials. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **33**, 3285–3292.
70. Howard, J., Masterson, L., Dwivedi, R.C., Riffat, F., Benson, R., Jefferies, S., et al. (2016) Minimally invasive surgery versus radiotherapy/chemoradiotherapy for small-volume primary oropharyngeal carcinoma. *The Cochrane database of systematic reviews*, **12**.
71. Nichols, A.C., Yoo, J., Hammond, J.A., Fung, K., Winquist, E., Read, N., et al. (2013) Early-stage

- squamous cell carcinoma of the oropharynx: radiotherapy vs. trans-oral robotic surgery (ORATOR)--study protocol for a randomized phase II trial. *BMC cancer*, **13**, 133.
72. Owadally, W., Hurt, C., Timmins, H., Parsons, E., Townsend, S., Patterson, J., et al. (2015) PATHOS: a phase II/III trial of risk-stratified, reduced intensity adjuvant treatment in patients undergoing transoral surgery for Human papillomavirus (HPV) positive oropharyngeal cancer. *BMC cancer*, **15**, 602.
 73. Bonner, J.A., Harari, P.M., Giralt, J., Cohen, R.B., Jones, C.U., Sur, R.K., et al. (2010) Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *The Lancet. Oncology*, **11**, 21–28.
 74. Rosenthal, D.I., Harari, P.M., Giralt, J., Bell, D., Raben, D., Liu, J., et al. (2016) Association of Human Papillomavirus and p16 Status with Outcomes in the IMCL-9815 Phase III Registration Trial for Patients with Locoregionally Advanced Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck Treated with Radiotherapy with or Without C. *Journal of Clinical Oncology*, **34**, 1300–1308.
 75. Magrini, S.M., Buglione, M., Corvo, R., Pirtoli, L., Paiar, F., Ponticelli, P., et al. (2016) Cetuximab and Radiotherapy Versus Cisplatin and Radiotherapy for Locally Advanced Head and Neck Cancer: A Randomized Phase II Trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **34**, 427–435.
 76. Kundu, S.K. e Nestor, M. (2012) Targeted therapy in head and neck cancer. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, **33**, 707–721.
 77. Ferris, R.L., Blumenschein, G.J., Fayette, J., Guigay, J., Colevas, A.D., Licitra, L., et al. (2016) Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *The New England journal of medicine*, **375**, 1856–1867.
 78. Balermipas, P., Rodel, F., Krause, M., Linge, A., Lohaus, F., Baumann, M., et al. (2017) The PD-1/PD-L1 axis and human papilloma virus in patients with head and neck cancer after adjuvant chemoradiotherapy: A multicentre study of the German Cancer Consortium Radiation Oncology Group (DKTK-ROG). *International journal of cancer*, **141**, 594–603.
 79. Seiwert, T.Y., Burtneess, B., Mehra, R., Weiss, J., Berger, R., Eder, J.P., et al. (2016) Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial. *The Lancet. Oncology*, **17**, 956–965.
 80. Best, S.R., Niparko, K.J. e Pai, S.I. (2012) Biology of human papillomavirus infection and immune therapy for HPV-related head and neck cancers. *Otolaryngologic clinics of North America*, **45**, 807–822.
 81. Yang, A., Farmer, E., Wu, T.C. e Hung, C.-F. (2016) Perspectives for therapeutic HPV vaccine development. *Journal of biomedical science*, **23**, 75.
 82. Reuschenbach, M., Pauligk, C., Karbach, J., Rafiyan, M.-R., Kloor, M., Prigge, E.-S., et al. (2016) A phase 1/2a study to test the safety and immunogenicity of a p16 (INK4a) peptide vaccine in patients with advanced human papillomavirus-associated cancers. *Cancer*, **122**, 1425–1433.
 83. Krupar, R., Imai, N., Miles, B., Genden, E., Misiukiewicz, K., Saenger, Y., et al. (2016) Abstract LB-095: HPV E7 antigen-expressing Listeria-based immunotherapy (ADXS11-001) prior to robotic surgery for HPV-positive oropharyngeal cancer enhances HPV-specific T cell immunity. *Cancer Research*, **76 (Supl 14)**
 84. Aggarwal, C., Cohen, R., Morrow, M.P., Bauml, J., Weinstein, G., Boyer, J., et al. (2015) Immunotherapy with VGX-3100 (HPV16 and HPV18 plasmids) + INO-9012 (DNA encoding IL-12) in human papillomavirus (HPV) associated head and neck squamous cell carcinoma (HNSCCA): interim safety and immunogenicity results. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **3 (Supl 2)**, P426.
 85. Langendijk, J.A., Lambin, P., De Ruyscher, D., Widder, J., Bos, M. e Verheij, M. (2013) Selection of patients for radiotherapy with protons aiming at reduction of side effects: the model-based approach. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology*

and *Oncology*, **107**, 267–273.

86. Kreimer, A.R., Shiels, M.S., Fakhry, C., Johansson, M., Pawlita, M., Brennan, P., et al. (2018) Screening for human papillomavirus-driven oropharyngeal cancer: Considerations for feasibility and strategies for research. *Cancer*, **124**, 1859–1866.
87. D’Souza, G. e Dempsey, A. (2011) The role of HPV in head and neck cancer and review of the HPV vaccine. *Preventive medicine*, **53** (Supl 1), S5–S11.
88. Nguyen, N.P., Nguyen, L.M., Thomas, S., Hong-Ly, B., Chi, A., Vos, P., et al. (2016) Oral sex and oropharyngeal cancer: The role of the primary care physicians. *Medicine*, **95**, 28(e4228).
89. Odone, A., Visciarelli, S., Lalic, T., Pezzetti, F., Spagnoli, F., Pasquarella, C., et al. (2015) Human papillomavirus-associated cancers: a survey on otorhinolaryngologists’ knowledge and attitudes on prevention. *Acta otorhinolaryngologica Italica : organo ufficiale della Societa italiana di otorinolaringologia e chirurgia cervico-facciale*, **35**, 379–385.
90. Markowitz, L.E., Dunne, E.F., Saraiya, M., Chesson, H.W., Curtis, C.R., Gee, J., et al. (2014) Human papillomavirus vaccination: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR. Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports*, **63**, 1–30.
91. Petrosky, E., Bocchini, J.A.J., Hariri, S., Chesson, H., Curtis, C.R., Saraiya, M., et al. (2015) Use of 9-valent human papillomavirus (HPV) vaccine: updated HPV vaccination recommendations of the advisory committee on immunization practices. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*, **64**, 300–304.
92. Mirghani, H., Jung, A.C. e Fakhry, C. (2017) Primary, secondary and tertiary prevention of human papillomavirus-driven head and neck cancers. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, **78**, 105–115.
93. Bogaards, J.A., Wallinga, J., Brakenhoff, R.H., Meijer, C.J.L.M. e Berkhof, J. (2015) Direct benefit of vaccinating boys along with girls against oncogenic human papillomavirus: bayesian evidence synthesis. *BMJ (Clinical research ed.)*, **350**, h2016.
94. Han, J.J., Beltran, T.H., Song, J.W., Klaric, J. e Choi, Y.S. (2017) Prevalence of Genital Human Papillomavirus Infection and Human Papillomavirus Vaccination Rates Among US Adult Men: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2013-2014. *JAMA oncology*, **3**, 810–816.